第 32 卷 第 3 期　　昆 虫 学 报　　Vol. 32, No. 3
1989 年 8 月　　ACTA ENTOMOLOGICA SINICA　　Aug., 1989

川楝素对粘虫幼虫拒食作用的电生理学研究

罗林儿　廖春燕*　周培爱
（北京大学生物学系，北京）
（*华南农业大学植保系，广州）

摘要　1×10^{-4}g/ml 川楝素溶液能诱发记录到粘虫(*Mythimna separata*)幼虫下颚瘤状体栓锥感器的传入发放。其发放频率有一个逐步发展的过程，并可引起几个感受器细胞的爆发性发放。若用 1×10^{-4}g/ml 川楝素溶液处理栓锥感器，则经过一段时间后，能抑制粘虫幼虫侧栓锥感器对 10mmol/L 蔗糖和中栓锥感器对 50mmol/L 肌醇的诱发反应。用二硫苏糖醇及川楝素的混合液处理上述感器，则能解除川楝素的抑制效应。对川楝素作为拒食剂对昆虫化学感受器的可能作用方式作了初步探讨。对其拒食效应与活乐木醛作了比较。

关键词　粘虫　下颚栓锥感器　川楝素　拒食剂

现有的实验表明川楝素是一种选择性作用于某些胆碱能突触的突触前阻断剂(施玉梁等，1980；Zhou 等，1986)。此外，川楝素对多种农业害虫有明显的拒食作用，并在田间应用川楝素防治菜青虫取得了显著效果(华南农学院昆虫毒理研究室，1982；赵善欢等，1982、1983、1985)。廖春燕等(1986)对粘虫幼虫的行为试验认为川楝素引起的拒食作用乃是通过对害虫的化学感受器和对中枢神经系统双重作用的结果。施玉梁等(1986)用电生理学方法记录粘虫下颚瘤状体上的栓锥感器的传入冲动，定性地观察到，川楝素处理后可以抑制感器细胞对诱食剂的反应。本文采用类似的方法进一步探讨川楝素对粘虫幼虫化学感受器诱发反应的抑制作用，及其可能的作用方式。

材 料 和 方 法

实验材料使用本实验室饲养的蜕皮后 24—48 小时的六龄粘虫 (*Mythimna separata*)。先用剪刀取下幼虫头部，再细心地将整个下颚游离出来，放在一直径为 2cm 的圆形铜板上，铜板预先铺一层由昆虫生理盐水(施玉梁等，1986)润湿的滤纸，暴露出下颚瘤状体上的侧栓锥感器和中栓锥感器。

试验溶液：用 0.1mol/L NaCl 或 0.001 mol/L NaCl 作为电解质溶液。诱食剂为 10mmol/L 蔗糖，50mmol/L 肌醇，均用 0.1 mol/L NaCl 配制。刺激用川楝素溶液则将纯度为 98% 以上的川楝素溶于丙二醇中，再用 0.1mol/L NaCl 稀释，配制成 1×10^{-4} g/ml，丙二醇含量小于 1%。处理用川楝素溶液配制方法相同，但改用 0.001mol/L NaCl 稀释，以减少 NaCl 溶液对感器的作用。对照处理液为含丙二醇 1% 的溶液，用 0.001 mol/L NaCl 稀释。川楝素、二硫苏糖醇 DTT 混合液则以 2×10^{-4}g/ml 与 1mmol/L

本文于 1987 年 3 月收到。
川楝素由军事医学科学院微生物流行病研究所舒国欣同志提供，特此致谢。

DTT 等容积混合。所有溶液的 pH = 7.0。全部实验在室温下(18℃±1℃)进行。

刺激和记录：取尖端直径为 30μm 的玻管内充上述试验溶液，作为刺激-记录电极，或对感器进行处理用。参考电极为上述铜板。刺激-记录电极经铂丝联至 MEZ-7101 微电极放大器，再经 FZG1A 型前置放大器进一步放大，输入到 SBR-1 双线示波器，用示波器照相机作连续照相记录。为排除感器的适应，刺激-记录电极每次与感器接触的时间不超过 3 秒钟，两次接触之间的间隔不少于 4 分钟。

以每秒神经冲动数作为反应量的大小，从刺激开始后统计前两秒钟内的平均冲动数记作冲动数/秒。

结 果

1. 川楝素诱发的化学感受器冲动的发放

图 1 显示充以刺激用川楝素溶液的玻管套在侧栓锥感器上的一例实验记录。最初只有频率很低的发放，约经 10 秒的潜伏期，发放频率开始增加，逐渐变成规则的等振幅排放，约 60 秒时出现由几个细胞产生的高频暴发发放，此后又变成排放，发放频率逐渐降低而静止。整个过程约经历 2 分钟。如继续将电极套在感器上，经过约 10 分钟的静息期后又开始重复上述过程。在 100 分钟的实验时间内，上述过程反复出现，只是每次暴发频率有所降低，静息期也逐渐加长。中栓锥感器对川楝素也产生同样形式的反应，但整个过程不如侧栓锥感器那样明显。用充以丙二醇对照液的玻管进行同样的实验，在 100 分钟的实验时间内始终只能记录到频率很低的发放。

2. 蔗糖诱发的侧栓锥感器和肌醇诱发的中栓锥感器的冲动发放及川楝素对它们的抑制作用

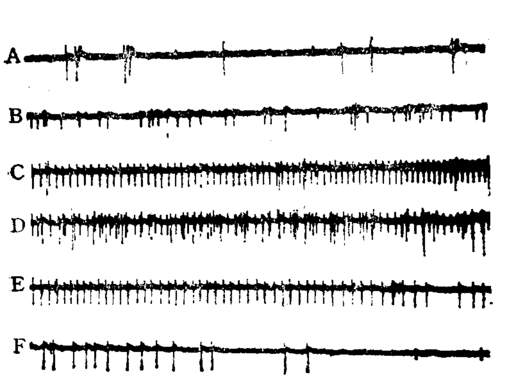


图 1 以 0.1mol/L NaCl 溶液配制成 1×10^{-4}g/ml 的川楝素引起的侧栓锥感器的传入发放。 A:5 秒时 B:20 秒时 C:40 秒时 D:60 秒时 E:120 秒时 F:为 E 的延续

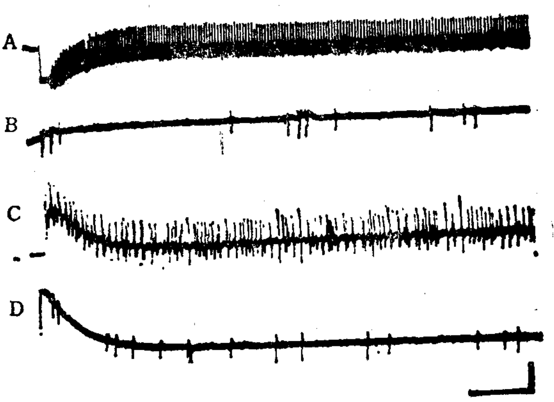


图 2 A:10m mol/L 蔗糖引起的侧栓锥感器的传入发放 B:0.1mol/L NaCl 的电解质溶液记录到的侧栓锥感器的电活动 C:50m mol/L 肌醇引起的中栓锥感器的传入发放 D:0.1mmol/L NaCl 的电解质溶液记录到的中栓锥感器的电活动
标尺横向代表 200 毫秒，纵向代表 200 微伏

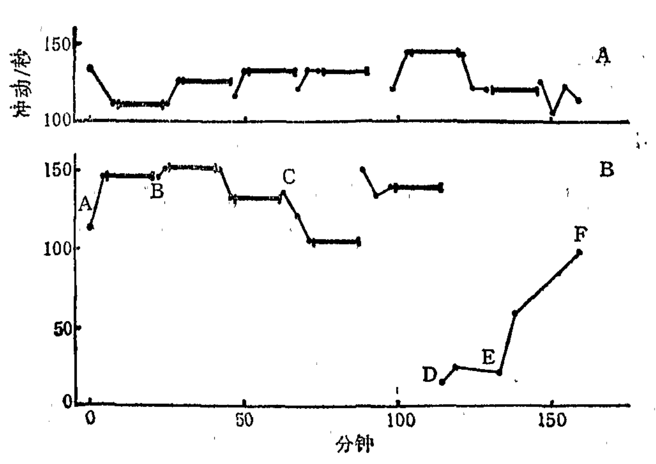
图 2A 是侧栓锥感器对 10mmol/L 蔗糖的反应。当电极一接触到感器，就能记录到高频发放，并有适应现象。六个标本的发放频率范围为 100—150 次/秒，平均为 126 次/

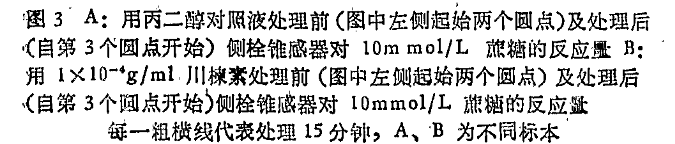
秒。图 2B 是侧栓锥感器对 0.1mol/L NaCl 的反应。图 2C 和D分别为中栓锥感器对 50mmol/L 肌醇和 0.1mol/L NaCl 的反应。对肌醇的反应在五例标本上发放频率范围为 70—100 次/秒，平均为 82 次/秒。侧、中栓锥感器对 0.1mol/L NaCl 只能记录到频率很低的发放。侧栓锥感器对肌醇，中栓锥感器对蔗糖的反应都不太明显。

先用 10mmol/L 蔗糖溶液检验侧栓锥感器的反应，得到较为稳定的反应后，改用充以川楝素处理液的玻管套在感器上处理 15 分钟，再换用 10mmol/L 蔗糖溶液检查感器对蔗糖的反应，经五次处理后，侧栓锥感器对蔗糖的反应突然下降（下降到原先反应量的 1/8—1/5），这表明川楝素抑制了侧栓感器对蔗糖的反应。停止用川楝素处理，则感器对蔗糖的反应可逐渐恢复。约 40 分钟后，冲动发放频率可恢复到原先反应量的 80% 左右。表明在这种浓度下川楝素的抑制作用是可逆的。图 3B 是其中一例标本的结果。用对照液处理的实验表明，处理六次后感器对蔗糖的反应未见明显变化。图 4 是图 3B 中所标明各点的示波器照相记录。

用同样方法观察到川楝素可抑制中栓锥感器对肌醇的反应。图 5 示一例标本处理四次后，感器对肌醇的反应量下降，一般可下降到原先反应量的 1/3—1/2，停止处理 40 分钟后，该感器对肌醇的反应未见有明显恢复。

3. DTT 能解除川楝素的抑制作用




图 3 A：用丙二醇对照液处理前（图中左侧起始两个圆点）及处理后（自第 3 个圆点开始）侧栓锥感器对 10m mol/L 蔗糖的反应量 B：用 1×10^{-4}g/ml 川楝素处理前（图中左侧起始两个圆点）及处理后（自第 3 个圆点开始）侧栓锥感器对 10mmol/L 蔗糖的反应量
每一粗横线代表处理 15 分钟，A、B 为不同标本

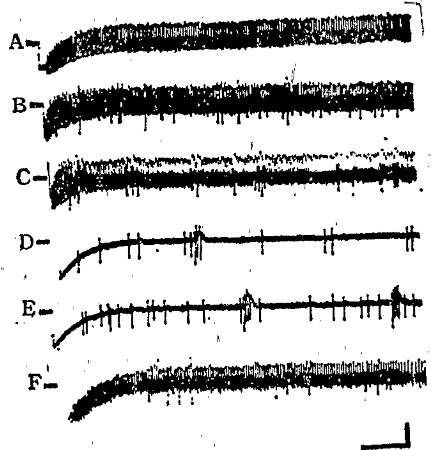


图 4 为图 3B 中所标明各点的示波器照相记录。D、E 两点感器对蔗糖的反应被抑制，F 点有明显恢复
标尺横向代表 200 毫秒，纵向代表 200 微伏

用川楝素 +DTT 的等容积混合液处理侧栓锥感器，再用 10mmol/L 蔗糖溶液检查感器对蔗糖的反应，经五次处理后，感器对蔗糖的反应未见明显变化（图 6）。对中栓锥感器的处理也有类似结果。表明 DTT 可解除川楝素引起的抑制作用。

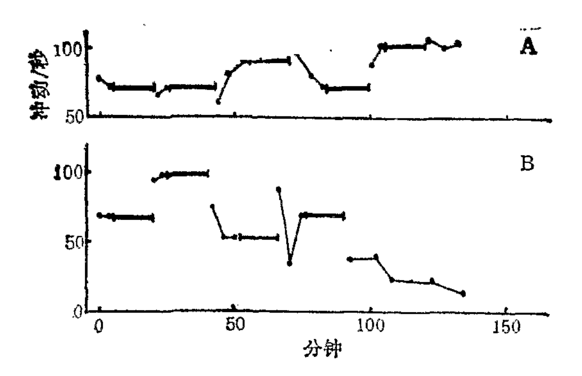


图 5　A：用丙二醇对照液处理中栓感器，处理前（图中左侧起始两个圆点）及处理后（自第 3 个圆点开始）中栓锥感器对 50mmol/L 肌醇的反应量 B：用 1×10^{-4}g/ml 川楝素处理前及处理后，中栓锥感器对 50mmol/L 肌醇的反应量。A、B 为不同标本

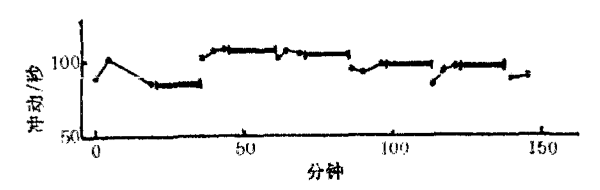


图 6　用川楝素 +DTT 混合液处理侧栓锥感器，处理前（图中左侧起始的三个圆点）及处理后（自第 4 个圆点开始）侧栓锥感器对 10mmol/L 蔗糖的反应量 每一粗横线代表处理 15 分钟

讨　论

本实验采用全游离的下颚标本，比之用游离头部（Ma，1977）及整体标本（施玉梁等，1986），可使下颚活动减少到最低限度，并排除了体内其他因素的可能干扰，因此实验结果较为稳定，记录到的脉冲振幅最大可达 250 微伏左右，重复性也较好。对于进行同类型实验，采用全游离的下颚标本是切实可行的。

用川楝素处理下颚瘤状体栓锥感器，可抑制其对诱食剂的反应，这一结果与施玉梁等（1986）的实验结果是一致的。但他们仅用 5×10^{-5}g/ml 的川楝素溶液处理 15 分钟，即可产生抑制效应，而我们所用川楝素浓度为 1×10^{-4}g/ml，需处理 4—5 次，每次 15 分钟，才能产生明显的抑制作用，其抑制效应似乎不如他们的实验那样明显，这可能有方法学上的原因，我们用充以川楝素处理液的微玻管套在感器顶端进行处理，比之用浸渍川楝素溶液的滤纸覆盖感器，相对说来可以保持处理液的浓度比较稳定。基于我们所用的粘虫与非洲粘虫在食性及感器结构上的相似性，把我们的实验结果与 Ma（1977）的结果相比较是很有意思的。Ma 用 1mmol/L 活乐木醛处理非洲粘虫幼虫下颚栓锥感器时，观察到对侧栓锥感器，两次处理后，每次 3 分钟，感器对 10mmol/L 蔗糖的反应有明显抑制作用；对中栓锥感器一次处理 15 分钟可抑制其对 50mmol/L 肌醇的反应。活乐木醛是目前已知的强烈拒食剂之一，考虑到我们所用的川楝素浓度 1×10^{-4}g/ml，大致相当于 0.17mmol/L，我们认为川楝素的拒食效应是可以与活乐木醛相比较的。廖春燕等（1986）对粘

虫幼虫的行为试验表明川楝素对六龄幼虫的拒食中浓度 (AFC_{50}) 为 82.25ppm，大致相当于 0.14mmol/L，而 Ma 对粘虫幼虫的行为试验表明活乐木醛引起拒食效应的阈值浓度为 0.5mmol/L，同样说明川楝素的拒食效应是可以与活乐木醛相比较。此外，川楝素引起栓锥感器传入发放的型式，以及 DTT 能解除川楝素的抑制作用，都与活乐木醛的作用相一致，很可能川楝素对昆虫化学感受器的作用与活乐木醛有相似之处，即作为 —SH 基的受体从而影响化学感受器的换能过程，使其丧失对诱食剂的敏感性。但在整体情况下川楝素的拒食效应可能还与川楝素对神经系统的直接作用有关。对此尚需作进一步深入研究。

参 考 文 献

赵善欢、张兴 1982 植物质杀虫剂对水稻三化螟的拒食及内吸毒力试验。中国农业科学 **4**: 55—62。

赵善欢、黄炳球、胡美英 1983 几种楝科植物种核油对褐稻虱的拒食作用实验。昆虫学报 **26**(1): 1—9。

赵善欢、曹毅、彭中健、黄家总 1985 应用天然产品川楝素防治菜青虫试验。植物保护学报 **12**(2): 125—32。

施玉梁、王文萍、廖春燕、赵善欢 1986 川楝素抑制粘虫幼虫化学感受器诱发峰的观察。昆虫学报 **29**(3): 233—8。

施玉梁、魏乃森、杨亚琴、王忠兴 1980 一个作用于突触前的神经肌肉传递阻断剂——川楝素。生理学报 **32**(2): 293—7。

廖春燕、赵善欢 1986 川楝素对粘虫幼虫拒食作用研究。华南农业大学学报 7(1): 1—6。

Ma W. C. 1977 Alteration of chemoreceptor function in armyworm larvae (*Spodoptera exempta*) by a plant-derived sesquiterpenoid and by sulfhydryl reagents. *Physiol. Entomol.* **2**: 199—207.

Zhou Pei-Ai, Luo Lin-Er, Bai Dong-Lin & Liao Chun-Yan 1986 Toosendanin, a natural product, as a neurotoxin and an antifeedant. The 6th International Congress of Pesticide Chemistry. Abstracts 2D/E-16.

ELECTROPHYSIOLOGICAL STUDY OF THE ANTIFEEDANT ACTION OF TOOSENDANIN TO THE ARMYWORM LARVAE

LUO LIN-ER LIAO CHUN-YAN* ZHOU PEI-AI

(Department of Biology, Peking University, Beijing)

*(*Department of Plant Protection, South China Agricultural University, Guangzhou)*

Preliminary behavioural experiments on armyworm larvae (*Mythimna separata* Walker) have shown that toosendanin, a triterpenoid from the chinaberry tree *Melia toosendan* S. et Z., is a strong antifeedant. In this paper the effect of toosendanin on the lateral and medial maxillary sensilla styloconica of the armyworm larvae was investigated with electrophysiological method. Glass capillaries of about 30 μm tip diameter were used as stimulatory——recording electrodes. Isolated maxillae of the last instar larvae were used. The sensillum exposed to 1×10^{-4} g/ml toosendanin produced a very weak response at first, after a latent period of several seconds it increased in discharges, and at about 1 minute it produced a transient bursting discharges in several receptor cells, and then gradually calmed down. During the one hour observation the above sequence repeated at about every 10 minutes. After 5 treatments (each 15 minutes) with 1×10^{-4} g/ml toosendanin, the response of the lateral sensilla to 10 mM sucrose reduced to about 1/5—1/8 of its original level. After stopping treatment with toosendanin, it could gradually recover to about 80 per cent in 40 minutes After 4 treatments, the response of the medial sensilla to 50 mM inositol dropped to 1/2—1/3 of its initial level, but no sign of recovery was seen during the ensuing 40 minutes. The inhibitory effect of toosendanin was completely abolished by treatments with a mixture of equal volume of 2×10^{-4} g/ml toosendanin and 1 mM dithiothreitol.

The experiment results showed that toosendanin as an antifeedant conformed to a mode of action very similar to that of warburganal. A comparison between this two substances is discussed.

Key words *Mythimna separata*——maxillary sensilla styloconica——toosendanin——antifeedant.